

Infusa Daging Buah Mahkota Dewa Memperbaiki Kerusakan Testis dan Parameter Sperma Tikus Diabetik

Mahkota Dewa Mesocarp Infusion Improved Testicular Damage and Sperm Count In Diabetic Rat

Evy Sulistyoningrum^{1*}, Setiawati¹, Herlina Nindyastuti¹, Adrian Nugraha Putra¹

ABSTRACT

Background: Global prevalence of Diabetes Mellitus (DM) is predicted to be increasing with worldwide population increase, longer life expectancy, urbanization, change in lifestyle and higher incidence of obesity. Diabetes Mellitus which is characterized by increasing level of blood glucose can induce increasing activity of ROS (Reactive Oxygen Species) which can further lead to abnormality in male reproductive system, especially testis. Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.=PM) contain flavonoid, alkaloid and saponin which can prevent further negative effect on ROS increase in male reproductive system. The aim of this study was to know effect of PM mesocarp infusion on testicular damage and sperm count in alloxan induced diabetic rat.

Design and Method: The design of this study was post test only with control group design. Rats in this study were divided into 4 groups (6 rats each group): control group, diabetic group, diabetic group treated with PM mesocarp infusion (9% and 13.5%). Diabetes was induced by alloxan 50 mg/BW single dose injection intramuscularly. PM mesocarp's infusion was given in 4 weeks. Testicular damage was observed in hematoxylin-eosin stain using Johnsen criteria for spermatogenesis level and tubulus seminiferous' diameter. Sperm count was performed on the semen taken from vas deferens using Giemsa stain.

Result: PM mesocarp infusion group has higher spermatogenic level ($p < 0,05$), higher tubulus seminiferus diameter and sperm count ($p < 0,05$) than diabetic group.

Conclusion: Mahkota dewa mesocarp infusion improved testicular damage and sperm count in alloxan-induced diabetic rat (Sains Medika, 4(2):115-123).

Key words: diabetes mellitus, *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl., testicular damage, sperm count

ABSTRAK

Pendahuluan: Prevalensi global Diabetes Mellitus diperkirakan akan semakin meningkat dengan peningkatan populasi global, angka harapan hidup yang semakin panjang, urbanisasi perubahan gaya hidup dan tingginya kejadian obesitas. Diabetes Mellitus yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa darah dapat menginduksi peningkatan aktivitas ROS (*Reactive Oxygen Species*) yang dapat menyebabkan abnormalitas pada saluran reproduksi maskulina, terutama testis. Daging buah Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.) (PM) mengandung flavonoid, alkaloid dan saponin yang dapat mencegah dampak negatif lanjut akibat peningkatan ROS pada sistem reproduksi maskulina. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui efek infusa daging buah PM pada kerusakan testis dan jumlah sperma pada tikus diabetik yang diinduksi alloxan

Metode Penelitian: Penelitian ini menggunakan pendekatan *post test only with control group design*. Tikus dibagi secara acak dalam 4 kelompok (masing-masing 6): kelompok kontrol, kelompok diabetik, kelompok diabetik mendapat infusa daging buah MD dosis 9% dan 13.5%. Diabetes diinduksi dengan injeksi alloxan 50 mg/kgBB dosis tunggal secara intramuskular. Infusa daging buah MD diberikan selama 4 minggu. Kerusakan testis diamati dengan pewarnaan hematoksilin eosin dengan menggunakan diameter tubulus seminiferus dan kriteria Johnson untuk menentukan tingkat spermatogenesis. Penghitungan jumlah sperma dilakukan pada cairan sperma dari ductus deferens dengan pewarnaan Giemsa.

Hasil Penelitian: Kelompok yang mendapat infusa daging buah PM memiliki tingkat spermatogenesis, diameter tubulus seminiferus, jumlah sperma yang lebih tinggi ($p < 0,05$).

Kesimpulan: Rebusan daging buah Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (scheff.) boerl.) memperbaiki kerusakan testis dan jumlah sperma pada tikus diabetik yang diinduksi alloxan (Sains Medika, 4(2):115-123).

Kata kunci : diabetes mellitus, *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl., kerusakan testis, jumlah sperma

¹ Jurusan Kedokteran Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu kesehatan Universitas Jenderal Soedirman
Bagian Histologi Jurusan Kedokteran Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu kesehatan Universitas
Jenderal Soedirman, Jl. Dr Gumbreg No 1 Purwokerto, Telp (0281) 622022, Hp 08156858121

* Email: evysulistyoningrum@yahoo.com.sg

PENDAHULUAN

Prevalensi DM semakin meningkat sejalan dengan tingginya angka obesitas, penambahan populasi dunia, meningkatnya usia harapan hidup, urbanisasi dan perubahan gaya hidup. Data WHO (2006) menunjukkan pada tahun 2000 prevalensi DM di dunia mencapai 171 juta jiwa (2,8%) dan diestimasikan pada tahun 2030 meningkat hingga 366 juta jiwa (4,4%). Di Indonesia sendiri diperkirakan pada tahun 2030 terjadi peningkatan jumlah penderita DM menjadi 21,3 juta jiwa dan Indonesia berada pada peringkat keempat negara dengan prevalensi DM tertinggi di dunia (Wild *et al.*, 2004).

Komplikasi DM yang sering terjadi salah satunya adalah komplikasi pada sistem reproduksi maskulina. Pada penderita DM dapat ditemukan penurunan kualitas sperma (Agbaje *et al.*, 2007). Pada tikus diabetes terjadi kegagalan spermatogenesis yang ditandai dengan atrofi tubulus seminiferus dan pengurangan sel spermatogenik (Guneli *et al.*, 2008). Gangguan ini menyebabkan abnormalitas hasil pada parameter cairan semen (Agbaje *et al.*, 2007) yang pada tahap akhir dapat menyebabkan infertilitas (Arikawe *et al.*, 2006). Angka kejadian infertilitas pada penderita DM tipe II mencapai 35,1% (Bener *et al.*, 2009).

Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl) merupakan salah satu tanaman herbal asli Indonesia yang telah banyak digunakan dalam pengobatan DM. Selain terbukti dapat menurunkan kadar glukosa darah, infusa daging buah mahkota dewa juga telah terbukti dapat memperbaiki regenerasi sel β pankreas (Arjadi *et al.*, 2008). Mahkota dewa juga telah terbukti memperbaiki komplikasi DM pada arteriosklerosis (Kautsari *et al.*, 2010). Kandungan flavonoid dan antioksidan pada mahkota dewa dapat menghambat stres oksidatif yang berperan dalam patomekanisme komplikasi DM pada berbagai sistem tubuh. Sampai saat ini belum ditemukan penelitian mengenai manfaat mahkota dewa pada komplikasi DM pada sistem reproduksi, khususnya yang berhubungan dengan sistem reproduksi maskulina. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar penggunaan infusa daging mahkota dewa sebagai salah satu alternatif pengobatan komplikasi DM pada sistem reproduksi maskulina.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan acak lengkap dengan pendekatan *post test only control group*. Hewan coba yang digunakan dalam

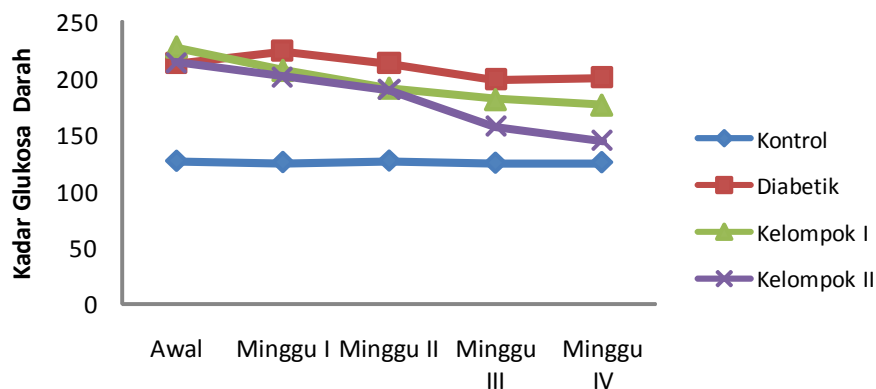
penelitian ini adalah 24 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar jantan. Hewan coba berumur 8-10 minggu dengan kisaran berat 150-200 gram dan dalam keadaan sehat. Hewan coba ini diperoleh dari Laboratorium Farmakologi dan Terapi Fakultas Kedokteran UMY. Hewan coba mendapat pakan standard dan minuman secara *ad libitum*. Bahan yang digunakan meliputi infusa daging buah mahkota dewa kadar 9 gram/100 ml dan 13,5 gram/100 ml. Bahan kimia meliputi aloksan (*Sigma Chemicals*), akuadestilata, pakan dan minum hewan coba, zat warna Giemsa, NaCl fisiologis dan bahan pembuatan preparat dengan pewarnaan Hematoksilin Eosin. Infusa daging buah mahkota dewa didapatkan dari buah mahkota dewa daerah Baturaden yang telah dideterminasi di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Fakultas Biologi Unsoed.

Aklimatisasi dilakukan selama tujuh hari, kemudian hewan coba dikelompokkan menjadi empat kelompok (masing-masing enam ekor), yaitu: kelompok kontrol (mendapatkan sonde akuades selama penelitian), kelompok diabetik, kelompok I (tikus diabetik yang mendapat mahkota dewa 9%), dan kelompok II (tikus diabetik yang mendapat mahkota dewa 13,5%). Induksi diabetik dilakukan dengan cara: hewan coba dipuasakan selama satu malam (10-12 jam), selanjutnya diinjeksi aloksan monohidrat dengan dosis 50 mg/kg BB *single dose* secara intramuskular (Semwal *et al.*, 2010). Kondisi diabetik dikonfirmasi dengan kadar glukosa darah puasa >150 mg/dL (Etuk dan Muhammed, 2010) dan empat minggu pasca induksi akan terjadi perubahan pada sistem reproduksi tikus putih jantan diabetik (Arikawe *et al.*, 2006). Penelitian ini dilakukan selama empat minggu. Pada akhir penelitian dilakukan terminasi dan pengambilan cairan sperma dari vas deferens untuk analisis dan testis untuk pembuatan sediaan histologis. Pemeriksaan jumlah sperma dengan pewarnaan Giemsa dilaksanakan di Laboratorium Patologi Klinik FK Unsoed sedangkan pembuatan sediaan histologis dengan pewarnaan Hematoksilin-Eosin dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi FKH UGM. Pada sediaan histologis dilakukan analisis gambaran histologis testis dengan pengukuran tingkat spermatogenesis di dalam tubulus seminiferus testis secara kuantitatif dengan metode Johnsen (Lukeman *et al.*, 2009) dan pengukuran diameter tubulus seminiferus. Data jumlah sperma, tingkat spermatogenesis, diameter tubulus seminiferus dan berat testis ditabulasikan dalam nilai rerata \pm SD 6 hewan coba. Perbedaan rerata variabel tiap kelompok dianalisis dengan uji ANOVA 1 jalan dilanjutkan uji *post hoc* LSD. Analisis dilakukan pada taraf kepercayaan 95% dengan bantuan

piranti lunak *SPSS for windows*.

HASIL PENELITIAN

Hiperglikemia terjadi pada semua kelompok diabetik pada awal penelitian. Kadar glukosa darah puasa tikus pada kelompok kontrol berada pada level normal (< 150 mg/dl), sedangkan pada kelompok diabetik kadar glukosa darah stabil pada kondisi hiperglikemik. Tikus diabetik yang mendapatkan perlakuan dengan mahkota dewa 9% mengalami penurunan kadar glukosa darah meskipun belum mendekati normal. Tikus diabetik pada kelompok II mengalami penurunan glukosa darah sampai tingkat kadar glukosa darah yang normal (Gambar 1).



Gambar 1. Rerata kadar glukosa darah hewan coba selama penelitian, dimana Kelompok I tikus diabetik + mahkota dewa 9%/hari, Kelompok II tikus diabetik + mahkota dewa 13,5%/hari.

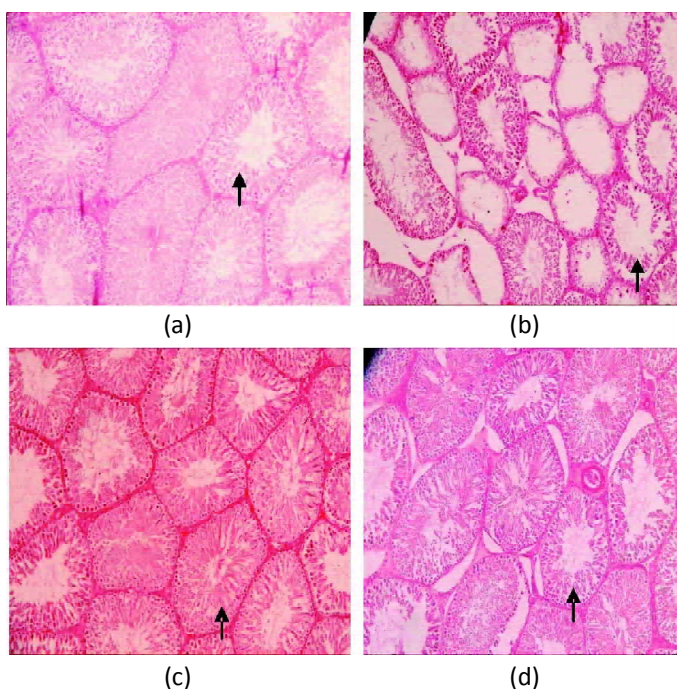
Hasil analisis terhadap berat testis, jumlah sperma, tingkat spermatogenesis dan diameter tubulus seminiferus testis ditampilkan pada Tabel 1. Kelompok tikus diabetik memiliki jumlah sperma, diameter tubulus seminiferus dan tingkat spermatogenesis yang paling rendah. Kelompok tikus diabetik yang mendapat Mahkota dewa memiliki jumlah sperma, diameter tubulus seminiferus dan tingkat spermatogenesis mendekati jumlah sperma dan tingkat spermatogenesis pada kelompok kontrol. Berat testis pada empat kelompok menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna.

Tabel 1. Karakteristik hewan coba pasca perlakuan

Kelompok	n	Jumlah sperma (x 10 ⁶ /ml)	Berat testis (mg)	Tingkat spermatogenesis	Diameter Tubulus Seminiferus (μm)
Kontrol	6	8,98 ± 5,03	1,47 ± 0,25	9,37 ± 0,56*	4,44 ± 0,27*
Diabetik	6	3,72 ± 2,38	1,40 ± 0,13	6,97 ± 1,76	2,55 ± 0,13
I	6	11,03 ± 9,93*	1,57 ± 0,11	8,93 ± 0,43*	3,73 ± 0,11*
II	6	11,05 ± 4,79*	1,58 ± 0,14	9,07 ± 0,67*	4,41 ± 0,19*

Keterangan: * p< 0.05 dibandingkan dengan kelompok diabetik. Kelompok I : tikus diabetik + mahkota dewa 9%/hari, Kelompok II : tikus diabetik + mahkota dewa 13,5 %/hari

Kelompok kontrol memiliki tubulus seminiferus intact dengan epitel yang tebal dan tingkat spermatogenesis yang normal (Gambar 2a). Pada kelompok tikus diabetik, tampak sebagian besar tubulus seminiferus memiliki epitel yang rendah (Gambar 2b), dinding tubulus tampak tidak intact lagi. Kelompok tikus diabetik yang mendapat Mahkota dewa memiliki tubulus seminiferus intact dengan epitel yang tebal dan tingkat spermatogenesis yang normal (Gambar 2c dan 2d).



Gambar 2. Tubulus seminiferus berbagai kelompok (a) kelompok kontrol, (b) kelompok diabetik, (c) kelompok I, (d) kelompok II. Perbesaran 100x, pewarnaan HE. Tanda panah menunjukkan epitel spermatogenik pada tubulus seminiferus

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, didapatkan peningkatan kadar glukosa darah pada kelompok yang diinduksi alloksan. Alloksan (2,4,5,6-tetraoksipirimidin; 5,6 dioksiurasil) adalah suatu derivat dari pyrimidin dan merupakan salah satu komponen asam urat. Jika alloksan disuntikan pada hewan coba dapat terjadi kerusakan sel β pulau Langerhans pankreas, sedangkan sel-sel alfa tetap utuh, sehingga jumlah insulin menurun dan menimbulkan peningkatan glukosa darah. Mekanisme aksi alloksan adalah efek toksik pada sel β pankreas yang diperantarai oleh *reactive oxygen species* (ROS). Alloksan dan produk reduksinya, asam dialurat dapat menyebabkan siklus redoks dengan pembentukan radikal superoksida. Radikal superoksida mengalami dismutasi ke hidrogen peroksida dan melalui reaksi Fenton terbentuk hidrogen radikal. Aksi ROS dengan peningkatan kadar kalsium sitosolik yang banyak menyebabkan kerusakan sel β pulau Langerhans yang cepat (Szkudelski, 2001). Selain itu alloksan juga menghambat sekresi insulin yang diinduksi oleh glukosa dengan cara menghambat glukokinase (sensor glukosa pada sel beta pankreas) (Lenzen, 2008).

Kelompok yang mendapatkan infusa daging buah mahkota dewa menunjukkan penurunan kadar glukosa darah. Pemberian infusa daging buah mahkota dewa 9% dan 13,5% dapat menurunkan kadar glukosa darah hewan coba (Arjadi *et al.*, 2008). Penurunan kadar glukosa darah akibat pemberian mahkota dewa dapat dijelaskan melalui dua mekanisme utama, yaitu secara intrapankreatik dan ekstrapankreatik. Mekanisme intrapankreatik bekerja dengan cara dengan penghambatan α -glukosidase (Tadera *et al.*, 2005; Sugiwati *et al.*, 2006). Enzim ini berfungsi untuk menghidrolisis karbohidrat makanan menjadi glukosa dan monosakarida lainnya (Sugiwati *et al.*, 2006). Flavonoid dan alkaloid juga meregenerasi sel β pankreas yang rusak dan melindungi sel β dari kerusakan akibat radikal bebas (Blasiak *et al.*, 2003).

Kandungan alkaloid pada mahkota dewa menurunkan glukosa darah dengan cara menghambat absorpsi glukosa di usus, meningkatkan transportasi glukosa di dalam darah merangsang sintesis glikogen dan menghambat sintesis glukosa dengan menghambat enzim glukosa 6-fosfatase, fruktosa 1,6-bisfosfatase serta meningkatkan oksidasi glukosa melalui glukosa 6-fosfat dehidrogenase (Sugiwati *et al.*, 2006). Alkaloid juga memiliki merangsang saraf simpatik yang berefek pada meningkatnya sekresi insulin. Saponin bekerja dengan cara menurunkan absorpsi glukosa di usus, menghambat *transporter* glukosa Glut-1, meningkatkan pemanfaatan glukosa di jaringan perifer, dan penyimpanan

glikogen serta peningkatan sensitifitas reseptor insulin di jaringan (Blasiak *et al.*, 2003).

Kelompok tikus diabetik mengalami kerusakan pada sistem reproduksi maskulina yang ditandai dengan tingkat spermatogenesis dalam tubulus seminiferus yang rendah (Ozdemir *et al.*, 2009), atrofi tubulus seminiferus dan jumlah sperma yang sedikit (Arikawe *et al.*, 2006). Pada tikus diabetik terjadi penurunan spermatogenesis dan apoptosis sel spermatogenik pada epitel seminiferus testis. Spermatogenesis dapat terganggu akibat mikroangiopati pada kondisi hiperglikemik yang dapat mengganggu pemberian nutrisi pada epitel seminiferus dan apoptosis sel spermatogenik (Arikawe *et al.*, 2006). Apoptosis sel spermatogenik terjadi akibat peningkatan ROS pada testis (Tremellen, 2008). Apoptosis yang diperantarai oleh ROS dapat terjadi melalui 3 jalur, yaitu: peroksidasi membran lipid, fragmentasi DNA dan ikatan silang protein. Peningkatan ROS pada kondisi hiperglikemia pada diabetes melitus disebabkan oleh peningkatan hasil reduksi dari beberapa gula (melalui proses glikolisis dan polyol) (King dan Loeken, 2004).

Kelompok tikus diabetik yang mendapat infusa daging buah mahkota dewa, baik 9% maupun 13,5% memperlihatkan perbedaan yang signifikan dalam jumlah sel sperma dan tingkat spermatogenesis dengan kelompok tikus diabetik. Hal ini disebabkan karena mahkota dewa memiliki beberapa zat aktif yang berfungsi sebagai antioksidan, yaitu saponin, phalerin dan flavonoid (Tambunan dan Simanjuntak, 2006). Zat antioksidan ini dapat menghilangkan radikal bebas dan menurunkan stress oksidatif sehingga jumlah ROS dan antioksidan berada dalam keadaan seimbang (Lukacinova *et al.*, 2008). Flavonoid dan phalerin dapat meningkatkan jumlah (Rodriguez *et al.*, 2004) dan aktivitas (Maneesh dan Jayalekshmi, 2006) enzim antioksidan yang berada dalam saluran reproduksi maskulina, yang berupa superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPX) dan Catalase (CAT) (Mallick *et al.*, 2010). Enzim antioksidan ini akan membantu perusakan radikal bebas sehingga menjadi molekul yang tidak reaktif dan berbahaya kembali (King dan Loeken, 2004); (Maneesh dan Jayalekshmi, 2006). Selain flavonoid dan saponin dapat menghambat apoptosis pada sel germinal testis tikus diabetik (Mallick *et al.*, 2010), juga memiliki sifat sitoprotektif pada jaringan testis (Shalaby dan Moumeir, 2010). Kandungan flavonoid sendiri juga memiliki efek peningkatan spermatogenesis pada tikus diabetik secara bermakna (Khaki *et al.*, 2009). Proses penghambatan produksi ROS juga terjadi secara tidak langsung dengan menghambat kondisi hiperglikemik seperti yang telah dijelaskan di atas.

KESIMPULAN

Pemberian infusa daging buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.) memperbaiki tingkat spermatogenesis, jumlah sperma dan diameter tubulus seminiferus tikus diabetik. Tikus diabetik yang mendapatkan infusa daging buah mahkota dewa menunjukkan tingkat spermatogenesis, jumlah sel sperma dan diameter tubulus seminiferus yang lebih tinggi secara signifikan dengan tikus diabetik yang tidak mendapat infusa daging buah mahkota dewa.

DAFTAR PUSTAKA

- Agbaje IM., Rogers DA., McVicar CM., McClure N., Atkison AB., Mallidis C., dan Lewis SEM. 2007. Insulin dependent diabetes mellitus: implication for male reproductive function. *Human Reproduction*. 22 (7): 1871-1877.
- Arikawe AP., Daramola AO., Odofin AO., Obika LFO. 2006. Alloxan-induced and Insulin-resistant Diabetes Mellitus affect Semen Parameters and Impair Spermatogenesis in Male Rats. *Afr J Reprod Health*, 10(3):106-113.
- Arjadi F., Mustofa, Sulistyoningrum, E. 2008. Kajian ekstrak buah mahkotadewa (*Phaleria macrocarpa* (scheff.)Boerl.) terhadap regenerasi sel pulau Langerhans pankreas pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) diabetes. *Jurnal Kedokteran & Kesehatan*. Th. 40 No. 4.
- Bener A., Zirrie M., Al-Ansari A., dan Al-Hamaq AOAA. 2009. Is Male Fertility Associated with Type 2 Diabetes Mellitus? *International Urology Nephrology*. 41:777-784.
- Blasiak J., Sigora A., Czethowsha A., dan Drazewaski J. 2003. Free radical scavengers can modulate the DNA-damaging action of alloxan. *Acta Biocem. Pol*. 50 (I) : 205-10.
- Etuk dan Muhammed. 2010. Evidence Based Analysis of Chemical Method of Induction of Diabetes Mellitus in Experimental Animals. *Asian Journal Experimental Biological Science*. 1(2): 331-336.
- Guneli E., Tugyan K., Ozturk H., Gumustekin M., Cilaker S., Uysal, N. 2008. Effect of Melatonin on Testicular Damage in Streptozotocin-Induced Diabetes Rats. *Eur Surg Res*, 40:354-360.
- Kautsari, S., Susatyo, P., Sulistyoningrum, E. 2010. Tinjauan histologis pembuluh darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) diabetes yang diberi rebusan daging buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (scheff.) Boerl.), *Mandala of Health*. 4(2): 92-96.
- Khaki, A., Nouri, M., Fathiazad, F. Ahmadi AHR., Rastgar H, Rezazadeh, SH. 2009. Effects of Quercetin on Spermatogenesis in Streptozotocin induced Diabetic Rat. *Journal of Medical Plant*. 8(5):57-64.
- King, G.L. dan Loeken, M. R. 2004. Hiperglicemia-induced oxidative stress in diabetic complication. *Histochemistry Cell Biology*. 122: 333-338.
- Lenzen, S. 2008. The Mechanisms of Alloxan and Streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*. 51: 216-226.

- Lukacinova A., Mojzis J., Benacka R., Keller J., Maguth T., Kurila P., Vasko L, *et al.*, 2008, Preventive Effects of Flavonoids on Alloxan-induced Diabetes Mellitus in Rats. *Acta Veterina*, 77:175-82.
- Lukeman, AJS., Remilekun SK., Olufemi O., Adetokunbo OT., dan Abraham OAA. 2009. Hypoglycaemia and improved testicular parameters in *Sesamum radiatum* treated normo-glycaemic adult male Sprague Dawley rats, *African Journal of Biotechnology*, 8 (12): 2878-2886.
- Mallick, C., Bera, T.K., Ali, K.M., Chatterjee, K., dan Ghosh, D. 2010. Diabetes-induced Testicular Disorder Vis-a-vis Germ Cell Apoptosis in Albino Rat: Remedial Effect of Hexane Fraction of Root *Musca paradisiacal* and Leaf of *Coccinia indica*. *Journal of Health Science*. 56(6):641:654.
- Maneesh, M. dan Jayalekshmi, H. 2006. Role of Reactive Oxygen Species and Antioxydants on Pathophysiology of Male Reproduction. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 21(2): 80-89.
- Ozdemir, O., Akalin, P.P., Baspinar, N., Hatipoglu, F. 2009. Pathological Changes in The Acute Phase of Streptozotosin-Induced Diabetic Rats. *Bulletin Veterinary Institute Pulawy*. 5: 783-790.
- Rodriguez, C., Mayo, J.C., Sainz, R.M., Antolin, I., Herrera, F., Martin, V. *et al.* 2004. Regulation of Antioxidant Enzymes: a Significant Role for Melatonin. *Journal of Pineal Research*. 36: 1-9.
- Semwal, DK., Rawat, U., Badoni, R., Semwal, R., dan Singh, R. 2010. Anti-Hiperglycemic Effect of *Stephania glabra* Tubers in Alloxan Induced Diabetic Mice. *Journal of Medicine* 11: 17-19.
- Shalaby, M.A dan Samar M. Moumeir. 2010. Effect of *Zingiber officinale* Roots and *Cinnamon zeylanicum* Bark on Fertility of Male Diabetic Rats. *Global Veterinaria*. 5 (6): 341-347.
- Sugiwati, S., Kardono, L.B.S. dan Bintang, M. 2006. A-Glukosidase Inhibitor Activity an Hipoglycemic Effect of *Phaleria macrocarpa* Fruit Pericarp Extracts by Oral Administration to Rats. *Journal of Applied Sciences* 6(10):2312-2316.
- Szkudelski T. 2001. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol Res*, 50(6):537-46.
- Tadera, K, Minami, Y., Takamatsu, K. 2005. Inhibition of α -Glucosidase and α -Amylase by Flavonoids. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*. 52(2): 149-153.
- Tambunan, R. M., dan Simanjuntak, P. 2006. Penentuan struktur kimia antioksidan benzofenon glikosida dari ekstrak n-butanol buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*(Scheff.) Boerl.). *Majalah Farmasi Indonesia*. 17(4): 184-189.
- Tremellen, Kelton. 2008. Oxidative stress and male infertility-a clinical perspective. *Human Reproduction Update*. 14(3): 243-258.
- Wild S., Roglig G., Green A., Sicree R. and King H., 2004. Global prevalence of diabetes. Estimates for the year 2000 and projections for 2030, Original article. *Diabetes Care*, 27 (5):1047-53.
- World Health Organization and International Diabetes Foundation, 2006. *Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia: report of a WHO/IDF consultation*. WHO Publisher, Geneva.